

### **III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**


Percobaan ini dilaksanakan di rumah plastik, dan Laboratorium Produksi Perkebunan Fakultas Pertanian, Universitas Lampung Bandar Lampung, dari bulan Februari 2010 sampai Mei 2010.

#### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat tulis, mikroskop stereo dan mikroskop majemuk, saringan (ukuran 250  $\mu\text{m}$ , dan 45  $\mu\text{m}$ ), cawan petri, cawan arloji, tabung reaksi, gelas preparat, timbangan, gunting, pinset makro, hand sprayer, dan nampan plastik.

Bahan yang digunakan antara lain inokulum fungi mikoriza *Glomus* sp. (P186-2 dengan jumlah spora  $\pm 100$  spora/ 5g) deskripsi untuk FMA jenis *Glomus* dapat dilihat pada Tabel 1, zeolit jenis P-3, pasir, air, pot plastik dengan volume 200 ml, 400 ml, 600 ml, 800 ml, 1100 ml, *Trypan blue*, aquades, pupuk Hyponex merah yang merupakan pupuk lengkap mengandung (25% unsur N, 5% unsur P, 20% unsur K dan unsur-unsur lain seperti boron, kalsium, kobalt, tembaga, besi, magnesium, mangan, molybdenum, sulfur, dan seng), pupuk Hoagland, dan benih *Pueraria javanica* (PJ).

Tabel 1. Deskripsi spora P-186-2.

Uraian	Keterangan
Genus	Glomus
	- Warna : Kuning orange kemerahan
	- Bentuk : Bulat
Ciri spora	- Ukuran : Sedang
Reaksi spora terhadap larutan Melzer	Spora tidak berubah warna
Asal	Kebun Kelapa Sawit Tidar Kerinci Agung Sumatera Barat
Spora akhir Media	2527/100g Pasir sungai : Zeolit P2= 1:1
Foto spora	

### 3.3 Metode Penelitian

Untuk menjawab pertanyaan dalam perumusan masalah dan untuk menguji hipotesis, maka perlakuan diterapkan dalam rancangan perlakuan faktorial (5x5) dengan 4 ulangan. Faktor pertama adalah volume media tanam yaitu  $v_1$  (pot dengan volume 200 ml),  $v_2$  (pot dengan volume 400 ml),  $v_3$  (pot dengan volume 600 ml),  $v_4$  (pot dengan volume 800 ml),  $v_5$  (pot dengan volume 1100 ml) dan faktor kedua adalah jumlah tanaman per pot yaitu  $t_1$  (1 tanaman per pot),  $t_2$  (2 tanaman per pot),  $t_3$  (3 tanaman per pot),  $t_4$  (4 tanaman per pot),  $t_5$  (5 tanaman per pot). Setiap percobaan diterapkan pada petak percobaan menurut rancangan

kelompok teracak sempurna (RKTS). Pengelompokan didasarkan pada perbedaan waktu tanam yang dilakukan.

Kehomogenan nilai tengah antar perlakuan data yang diperoleh diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tukey. Jika data homogen dan bersifat menambah, maka data kemudian dianalisis ragam. Pemisahan nilai tengah antar perlakuan dilakukan dengan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT 5%) dan uji Regresi.

### **3.4 Pelaksanaan Penelitian**

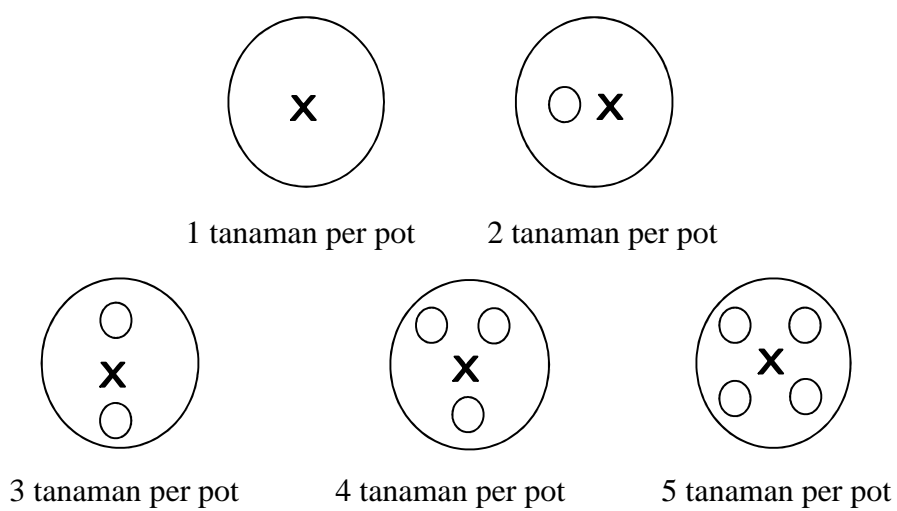
#### *3.4.1 Menyiapkan Media tanam*

Media tanam yang digunakan terdiri dari pasir dan zeolit yang telah dicampur dengan perbandingan 1:1. Sebelum dimasukkan kedalam pot, media tanam yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Pasir disterilkan dengan autoclave dengan suhu 121 °C selama  $\pm$  1 jam sebanyak 2 kali dengan selang 1 hari. Dan untuk zeolit tidak perlu di sterilkan tetapi dicuci untuk menghilangkan tepung zeolit yang halus. Media tanam yang telah steril tersebut kemudian dimasukkan ke dalam pot sesuai dengan perlakuan. Jumlah pot yang diisi dengan media tanam sebanyak 100 buah (5 volume pot x 5 tanaman inang x 4 ulangan), lalu masing-masing pot disiram dengan volume yang sama.

#### *3.4.2 Inokulasi Mikoriza dan Penanaman*

Inokulasi FMA dilakukan setelah benih Pj berkecambah (3 hari). Benih Pj disterilisasi dengan larutan chorox 5 % sebelum disemai dalam cawan petri yang

sudah dilapisi dengan kertas merang yang lembab. Inokulasi dilakukan dengan cara menempelkan spora mikoriza P 186-2 sebanyak 3 spora pada akar tanaman Pj. Pada bagian pot yang akan ditanami kecambah dibuat lubang dengan diameter  $\pm 5$  mm dengan kedalaman  $\pm 10$  mm, kemudian kecambah yang akan ditanam dimasukkan ke dalam lubang tanam, kemudian ditutup kembali dengan media. Kecambah yang telah diinokulasi dengan spora ditanam di tengah-tengah pot, dan untuk perlakuan dengan jumlah tanaman inang lebih dari satu, maka kecambah yang lain diletakkan di sekeliling kecambah yang diinokulasi (Gambar 1). Setelah selesai penanaman dan penempelan label sesuai dengan volume media dan jumlah tanaman, pot-pot disusun di dalam rumah plastik sesuai dengan tata letak percobaan. Tata letak percobaan dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan:

X = kecambah yang diinokulasi FMA

O = kecambah yang tidak diinokulasi FMA

Gambar 1. Letak tanaman yang diinokulasi dan yang tidak diinokulasi FMA.

### Ulangan 1

### Ulangan 3

$v_3t_4$	$v_4t_4$	$v_3t_1$	$v_5t_2$	$v_2t_3$
$v_5t_1$	$v_1t_3$	$v_3t_3$	$v_5t_3$	$v_3t_2$
$v_1t_1$	$v_1t_2$	$v_2t_2$	$v_1t_5$	$v_4t_1$
$v_5t_5$	$v_3t_5$	$v_4t_2$	$v_1t_4$	$v_4t_5$
$v_2t_1$	$v_2t_5$	$v_2t_4$	$v_4t_3$	$v_5t_4$

$v_5t_1$	$v_3t_2$	$v_1t_1$	$v_1t_5$	$v_1t_3$
$v_5t_5$	$v_4t_2$	$v_3t_5$	$v_4t_4$	$v_2t_1$
$v_2t_4$	$v_2t_2$	$v_3t_1$	$v_5t_4$	$v_5t_2$
$v_2t_5$	$v_4t_3$	$v_2t_3$	$v_4t_1$	$v_3t_3$
$v_4t_5$	$v_1t_2$	$v_3t_4$	$v_5t_3$	$v_1t_4$

### Ulangan 2

### Ulangan 4

$v_1t_3$	$v_2t_1$	$v_3t_5$	$v_1t_2$	$v_3t_1$
$v_5t_1$	$v_4t_4$	$v_4t_2$	$v_5t_5$	$v_1t_4$
$v_1t_1$	$v_1t_5$	$v_2t_3$	$v_5t_3$	$v_2t_4$
$v_4t_3$	$v_3t_4$	$v_5t_4$	$v_3t_2$	$v_3t_3$
$v_2t_5$	$v_4t_1$	$v_2t_2$	$v_5t_2$	$v_4t_5$

$V_4t_4$	$V_1t_2$	$V_5t_2$	$V_4t_3$	$V_5t_5$
$V_2t_3$	$V_4t_5$	$V_1t_5$	$V_3t_4$	$V_4t_1$
$V_2t_2$	$V_2t_4$	$V_2t_5$	$V_1t_3$	$V_3t_3$
$V_1t_1$	$V_3t_1$	$V_5t_3$	$V_5t_4$	$V_4t_2$
$V_3t_2$	$V_5t_1$	$V_3t_5$	$V_2t_1$	$V_1t_4$

Keterangan:

$V_1$  = pot dengan volume  
200 ml       $t_1$  = 1 tanaman inang  
per pot

$V_2$  = pot dengan volume 400 ml       $t_2$  = 2 tanaman inang per pot

$V_3$  = pot dengan volume 600 ml       $t_3$  = 3 tanaman inang per pot

$V_4$  = pot dengan volume 800 ml       $t_4$  = 4 tanaman inang per pot

$V_5$  = pot dengan volume 1100 ml       $t_5$  = 5 tanaman inang per pot

Gambar 2. Tata letak percobaan di rumah plastik.

### *3.4.3 Pemupukan*

Pemupukan dilakukan dengan menggunakan pupuk Hyponex merah dengan konsentrasi 2 g/liter, dan pupuk Hoagland (Lampiran pada Tabel 25). Jumlah pupuk yang diberikan setiap kali pemupukan adalah:

1. Volume media 200 ml diberikan dosis 10 ml
2. Volume media 400 ml diberikan dosis 20 ml
3. Volume media 600 ml diberikan dosis 30 ml
4. Volume media 800 ml diberikan dosis 40 ml
5. Volume media 1100 ml diberikan dosis 55 ml.

### *3.4.4 Perawatan tanaman*

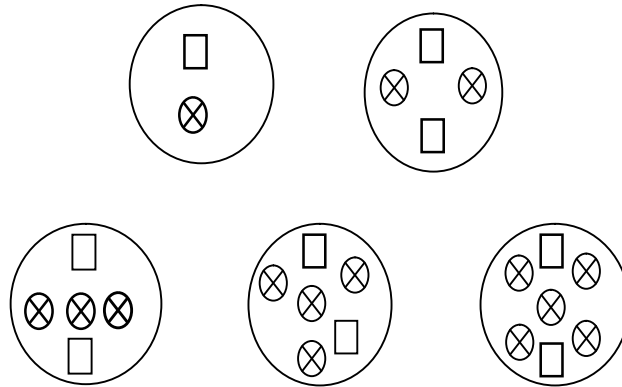
Tanaman disiram setiap pagi dan sore hari. Pengendalian gulma dilakukan secara manual dengan mencabut gulma yang tumbuh di dalam pot.

## **3.5 Pengamatan**

1. Jumlah spora. Spora dihitung saat tanaman berumur 2 bulan dan pada saat panen (umur tanaman 4 bulan). Pengambilan sampel media tanam dilakukan dengan alat 'soil sampler' pada dua titik setiap pot (Gambar 3), kemudian sampel tersebut dikeringkan, apabila terdapat akar dipisahkan dari sampel untuk pengamatan infeksi akar. Sampel media kemudian ditimbang ( $\pm 18$  gram) dan dimasukkan ke dalam gelas ukur, ditambahkan air keran  $\pm 500$  ml kemudian diaduk agar spora terlepas dan mengambang di dalam air. Air dalam gelas ukur kemudian dituangkan ke saringan yang disusun dengan ukuran 250  $\mu\text{m}$ , dan 45  $\mu\text{m}$ . Prosedur ini diulang sebanyak 3 kali. Spora yang tersaring pada masing -



masing saringan dikumpulkan dalam cawan petri dan diamati dengan mikroskop stereo dengan perbesaran 40 kali. Spora kemudian dihitung secara manual.



Keterangan:

⊗ = tanaman inang

□ = tempat pengambilan sampel.

Gambar 3. Letak pengambilan sampel media tanam.

2. Persen infeksi akar oleh FMA. Persen infeksi dihitung saat tanaman berumur dua bulan dan pada saat panen. Sampel akar diambil secara acak ( $\pm 1$  gram) kemudian dicuci sampai bersih dan dimasukkan ke dalam botol film. Botol yang telah berisi sampel akar diisi dengan larutan KOH 10% sampai seluruh sampel akar terendam dan dikukus dalam water bath dengan suhu 80 °C selama 15 menit untuk membersihkan sel dari sitoplasma. Larutan KOH lalu dibuang, dan akar dicuci dengan air yang mengalir. Kemudian sampel akar direndam kembali dengan larutan HCL 1% dan dikukus kembali dalam water bath dengan suhu 80 °C selama 10 menit. Larutan HCL kemudian dibuang dan akar diwarnai dengan

merendamnya dalam larutan *Trypan Blue* 0,05% (0,5 gram *Trypan blue* dalam 450 ml glycerol + 50 ml HCL 1% + 500 ml aquades) dan dikukus dalam water bath dengan suhu 80 °C selama 10 menit. Akar yang sudah diwarnai kemudian disusun di atas preparat untuk diamati di bawah mikroskop majemuk dengan perbesaran 100 kali. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase infeksi akar oleh FMA adalah sebagai berikut:

$$\text{Infeksi akar (\%)} = \frac{\text{akar yang terinfeksi}}{\sum \text{pengamatan}} \times 100\%$$

3. Bobot kering akar. Bobot kering akar ditimbang setelah pemanenan (umur tanaman 5 bulan) dengan cara media dibongkar lalu akar dipisahkan, dioven pada suhu 70°C selama 48 jam lalu ditimbang.

4. Bobot kering tajuk. Bobot kering tajuk ditimbang setelah pemanenan (umur tanaman 5 bulan) dengan cara tajuk yang telah dipotong lalu dipisahkan dan dioven pada suhu 70°C selama 48 jam lalu ditimbang.